ZUR KENNTNIS DER ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE VON STICHOCOCCUS BACILLARIS Näg.

von

H. EILERS.

1. Einleitung.

Obwohl mehrere Forscher sich schon mit den für das Wachstum der Chlorophyceae notwendigen Elementen beschäftigt haben, kam mir eine mehr systematische Bearbeitung doch wünschenswert vor. Die meisten Forscher haben sich darauf beschränkt ein Element oder mehrere Elemente wegfallen zu lassen, und haben so deren Einflusz auf das Wachstum des Lebewesens untersucht. Wenn man aber eine Reihe Algenkulturen macht, mit regelmässig steigenden Mengen des Elementes, bekommt man eine genauere Kenntnis dessen Notwendigkeit und lernt auch die für das Wachstum am meisten geeignete Konzentration kennen. Das sehr langsame Wachstum dieser Algen ist Ursache, dasz man meistens den möglichen Ertrag an Algenmaterial nicht abwartet, sondern den Versuch eher abbricht und so ein Masz für die Wachstumgeschwindigkeit bestimmt.

2. Beschreibung der für die Versuche benutzten Algen.

Für diese Untersuchung benutzte ich eine von Frl. C. M. Voormolen, auf Agarplatten, denen eine Salzlösung nach Benecke zugefügt worden war, erhaltene Reinkultur einer Grünalge. Diese wurde bei Determination nach den Kryptogamenfloren von A. Pascher 1) und von

G. Lindau 2) als *Stichococcus bacillaris* Näg. bestimmt. Die Zellen sind zylindrisch bis tonnenförmig, mit einem seitlich gelegenen Chromatophoren. Niemals wurden Pyrenoide beobachtet. Die Vermehrung findet statt durch Querteilung; die Tochterzellen können zu mehr oder weniger langen Fäden vereinigt bleiben. Bewegliche Stadien wurden nicht gesehen. Die Zellenlänge variiert von 6—12 μ, die Breite von 3—4 μ.

Ernährungsphysiologisch verhielt diese Grünalge sich genau so, als von R. Chodat 3) beschrieben worden ist. Das Wachstum auf Agarplatten, denen eine Salzlösung und 2 % Glucose zugesetzt worden war, ist viel schneller, als auf Platten welche keine Glucose enthielten. Auch auf Gelatineplatten mit Nährsalzen und 2 % Glucose wächst die Alge in groszen dunkelgrünen Kolonien und verschmilzt alsdann die Gelatine: fügt man aber ausserdem noch 0,1 % Pepton hinzu, so wird die Gelatine nicht angegriffen.

3. Die Kultur- und Analysemethode.

Die Algen wurden in der von O. Warburg 4) angegebenen Weise kultiviert. Sie wurden Tag und Nacht künstlich beleuchtet mittels einer 500 Watt Sonnenlichtlampe der Philips-Glühlampenfabrik zu Eindhoven. Diese Lampe war innerhalb einer doppelten Glasglocke aufgestellt worden; durch diese Glocke strömte Kühlwasser. Die Kulturgefässe, Erlenmeyerkolben aus Jenaer oder Resistenz Glas von 500 oder 1000 cm^3 Inhalt, wurden auf zwei Etagen von Glasplatten gestellt. Auf jeder Etage konnten etwa 18 Kolben stehen. Das Ganze war von einem Schirm aus weisser Pappe umgeben. Die Lichtintensität innerhalb des so gebildeten Raumes war sehr gleichmässig. Die Erlenmeyerkolben wurden mittels zweifach durchbohrten Gummipfropfen verschlossen. In jeden Pfropfen wurde ein langes und ein kurzes Glasröhrchen gesteckt. Nachdem die Kolben mit Nährlösung im Autoklav sterilisiert worden

waren, wurden die Röhrchen mittels Gummischläuchen, welche durch Sieden in Wasser steril gemacht worden waren, verbunden. Während des Versuches wurde durch diese Röhrchen, und somit durch die Kulturlösungen, ein Luftstrom, dem etwa 4 Volumenprozente Kohlendioxyd zugegeben worden war, geleitet.

Nach einigen Vorversuchen wurde folgende Zusammensetzung der Nährlösung gewählt.

Destilliertes Wasser	250 cm^3.
$CaCl_2$ (wasserfrei)	0,025 g
$NH_4\,NO_3$	0,100 g
$MgSO_4$ (wasserfrei)	0,050 g
$K_2\,HPO_4$ (wasserfrei).	0,150 g
$FeCl_3$	Spur

Diese Nährlösung werde ich im Folgenden als die „Normale" bezeichnen. Die Chemikalien waren durch mehrfaches Umkristallisieren gereinigt worden.

Die Kolben einer Serie wurden mit einer constanten Menge einer Algensuspension in sterilisiertem destilliertem Wasser, dem einige Salze, abhängig des Versuches zugegeben worden waren, infiziert. Das Impfmaterial war in Kulturröhren, auf Leitungswasser mit 2 % Agar, $^1/_{20}$ % $NH_4\,NO_3$ und $^1/_{20}$ % $K_2\,HPO_4$ gezogen. Ein schnelleres Wachstum von *Stichococcus bacillaris* auf einer festen Unterlage kann man erreichen auf, mit 2 % Agar gelatiniertem, fünffach verdünntem Malzextract. Die hierauf gewachsenen Algen sehen aber, microscopisch betrachtet, weniger regelmässig aus und es ist sehr schwierig sie homogen zu suspendieren.

Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur vorgenommen, da eine Temperatursteigerung bis 30° C. die Wachstumgeschwindigkeit dieser Alge bedeutend herabsetzt. Die Versuche dauerten zwei bis drei Wochen. Wenn gutes Wachstum eingetreten, war die Kulturflüssigkeit

intensiv grün gefärbt. Einen Eindruck dieses Wachstums bekommt man wenn man in Fig. I die Kolben, in denen das Wachstum von Spuren CsCl gehemmt worden ist, vergleicht mit denen, worin KCl zugesetzt worden ist. Die Menge des gebildeten Zellmaterials wurde durch zentrifugieren in Tromsdorfschen Röhrchen 5) bestimmt. Diese Röhrchen, die zur Bestimmung der Sedimentzahl der Milch angefertigt werden, wurden erst durch gegenseitigen Vergleich geeicht, da es welche gibt, die sehr ungenau kalibriert worden sind. Vor dem Zentrifugieren wurde schwach angesäuert, um in verdünnten Säuren lösliche Niederschläge (u. A. Phosphate) zu beseitigen. Das gefundene Volumen ist erstens abhängig von der gebildeten Zellmenge, aber auch von der Form der Zellen und dem Fadenbildungsgrad, welche wieder mit der Ernährung der Algen im Zusammenhang stehen. Es zeigte sich aber, dasz die Form und die Fadenbildung von wenig Bedeutung waren und dasz das abgelesene Volumen dann auch als Vermehrungsmasz dienen konnte. In einigen Serien wurde auch die in den Zellen befindliche Menge Stickstoff mittels einer Micro-Kjeldahl Bestimmung der, durch Zentrifugieren und Auswaschen der ganzen Kultur, gewonnenen Algen bestimmt. Die so gefundene Werte gaben ein ganz ähnliches Wachstumsbild.

4. Der Einflusz von Kalium-, Rubidium- und Caesiumsalzen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Erstens wurde der Einflusz verschiedener Mengen Kaliumsalz erörtert. In der oben erwähnten normalen Lösung wurde das K_2HPO_4 ganz oder teilweise von einer equivalenten Menge Na_2HPO_4 ersetzt: einigen Kolben wurde noch K_2HPO_4 zugesetzt. In den folgenden Tabellen findet man den Ersatz mitgeteilt, nebst den Algenvolumen, welche nach dem Abzentrifugieren ermittelt wurden.

Tabelle 1.

Der Einflusz von verschiedenen Mengen Kaliumsalzes auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

1ste Reihe.

K_2HPO_4 und Na_2HPO_4 in 250 cm^3 der sonst „normalen" Lösung.		Abgelesenes Algenvolumen nach 15 Tagen pro 10 cm^3 Nährlösung.
0,20 g K_2HPO_4		0,19 cm^3
0,15 g „		0,17 „
0,10 g „	0,045 g Na_2HPO_4	0,165 „
0,05 g „	0,090 g „	0,15 „
0,04 g „	0,100 g „	0,13 „
0,03 g „	0,108 g „	0.10 „
0,02 g „	0.117 g „	0,08 „
0,01 g „	0,126 g „	0,07 „
0,00 g „	0,135 g „	0,01 „

Tabelle 2.

Der Einflusz von verschiedenen Mengen Kaliumsalzes auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

2te Reihe.

K_2HPO_4 und Na_2HPO_4 in 250 cm^3 der sonst „normalen" Lösung.		Abgelesenes Algenvolumen nach 14 Tagen pro 10 cm^3.	Kjeldahl-Stickstoff in den Zellen.
0,15 g K_2HPO_4		0,15 cm^3	—
0,10 g „	0,045 g Na_2HPO_4	0,15 „	6,39 mg
0,04 g „	0,099 g „	0,14 „	6,03 „
0,03 g „	0,108 g „	0,14 „	5,40 „
0,02 g „	0,117 g „	0,095 „	3,95 „
0,01 g „	0,126 g „	0,065 „	2,43 „
0,00 g „	0,135 g „	0,03 „	1,50 „

In Fig. II findet man eine graphische Darstellung dieser Versuchsreihen. Die Kulturen, in denen kein Kaliumsalz zugesetzt worden war, waren blaszgrün und enthielten viele toten Zellen. Dieses erklärt das eingetretene Wachstum, da beim Absterben der Algen nach Weevers 6), die sich in den Zellen befindlichen Kaliumverbindungen in Lösung treten können. Bei Zusatz von wenig Kaliumsalz ist die Vermehrung der zugesetzten Menge proportional, wie man aus der graphischen Darstellung II sieht. Wenn man aber mehr des Elementes zufügt, kommt man in ein Gebiet wo das maximal mögliche Wachstum noch nicht erreicht worden ist. Hier wird die Wachstumsgeschwindigkeit nur wenig von der Menge des Kaliums beeinfluszt.

Von Nägeli, Winogradsky 7) und Benecke 8) ist schon längst nachgewiesen worden, dasz für mehrere Bakterien und Schimmelpilze Kalium von Rubidium und für einige Arten selbst von Caesium ersetzt werden kann. Die Salze dieser Alkalimetalle waren jedoch schon in sehr geringer Konzentration dem Organismus schädlich. Bei anderen Pilzen (*Mucor* und *Penicillium* spec). konnte Benecke 9) in einer kaliumfreien Kulturflüssigkeit, welche Rubidiumsalze enthielt, wohl ein Wachstum des Myceliums beobachten, jedoch erhielt er keine Sporenbildung; auch der Stoffwechsel wurde ungünstig beeinfluszt. Obwohl H. Molisch 10) schon zeigte, dasz bei Algenkulturen Kalium nicht von Rubidium ersetzt werden kann, habe ich diese Versuche wiederholt.

Um den Einflusz geringer Mengen Rubidiums und Caesiums auf das Wachstum von *Stichococcus bacillaris* zu prüfen, wurden Kulturen angestellt, welche nur wenig Kaliumsalz enthielten. Diesen wurden geringe, equivalente Mengen Kalium-, Rubidium- oder Caesiumchlorides zugesetzt. Das Ergebnis dieses Versuches ist in Tabelle 3 und in die graphische Darstellung III eingetragen worden.

Tabelle 3.

Der Einflusz kleiner Mengen Kalium-, Rubidium- und Caesiumchlorides auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Zugesetztes Alkalichlorides pro 250 cm^3 der sonst „normalen" Lösung.	Gramequivalent pro 100 cm^3	Abgelesenes Algenvolumen nach 14 Tagen pro 10 cm^3.
*Kein Zusatz	—	0,12 cm^3
*0,0052 g K Cl	0,000028	0,14 cm^3
*0,0157 g „	0,000085	0,15 cm^3
0,0262 g „	0,00014	0,17 cm^3
0,0368 g „	0,00020	0,17 cm^3
0,0525 g „	0,00028	0,17 cm^3
*0,0085 g Rb Cl	0,000028	0,050 cm^3
*0,0255 g „	0,000085	0,025 cm^3
0,0425 g „	0,00014	0,020 cm^3
0,0595 g „	0,00020	0,015 cm^3
0,085 g „	0,00028	0,010 cm^3
*0,0117 g Cs Cl	0,000028	0,005 cm^3
*0,0352 g „	0,000085	0,001 cm^3
0,0585 g „	0,00014	0,000 cm^3
0,0819 g „	0,00020	0,000 cm^3
0,117 g „	0,00028	0,000 cm^3

Die mit * bezeichneten Kolben sind in Figur I fotografisch dargestellt am Ende des Versuches nach Entfernung der Gummipfropfen. Man sieht hier schon augenblicklich den schädlichen Einflusz geringer Mengen Rubidiums und den noch weit stärkeren von Spuren Caesiums ausgeübt. Das Caesium beeinträchtigt das Wachstum in der Konzentration 0,0047 pro Hundert schon sehr, und 0,023 pro Hundert hemmt die Algenvermehrung schon vollständig. Das Rubidium ist weniger giftig, doch keine günstige Ein-

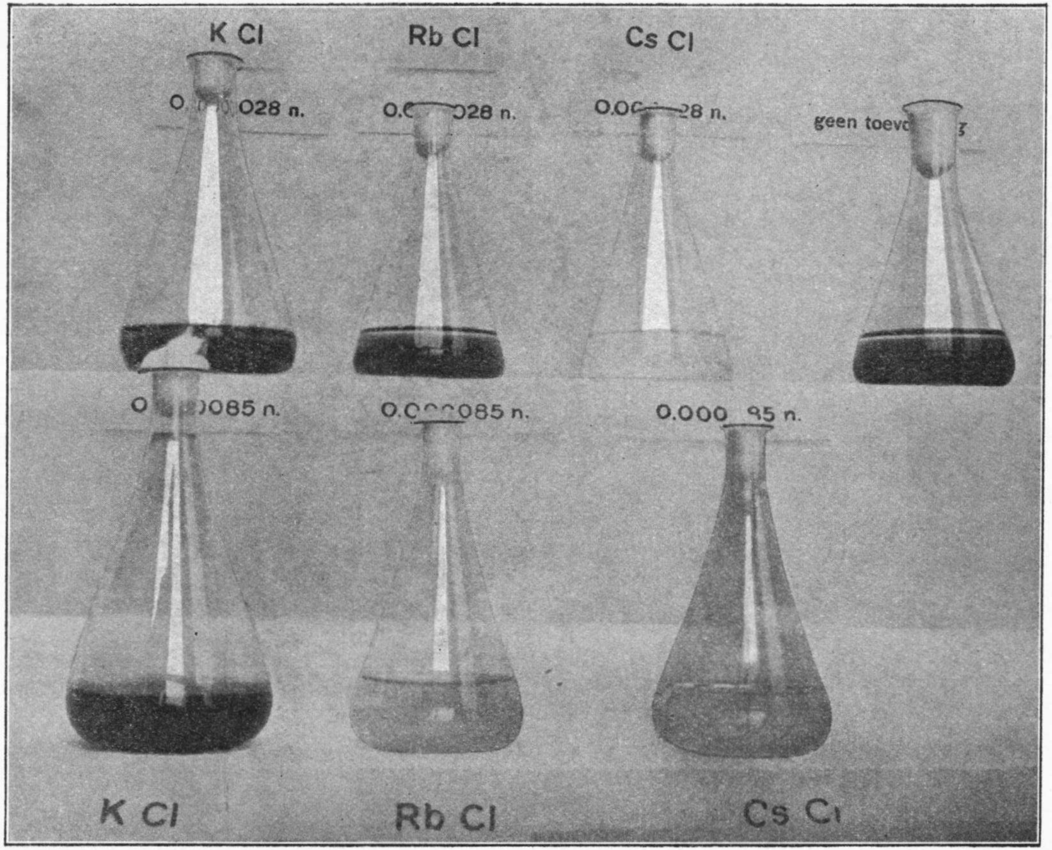


Fig. I. Der Einflusz geringer Mengen Rubidiums und Caesiums auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

wirking ist hier nachweisbar. In Versuchsreihen in welchen das Kalium viel vollständiger ausgeschaltet worden war, trat bei Zusatz von Rubidium- oder Caesiumsalzen kein oder nur ein sehr spärliches Wachstum ein, jedoch in keinem Kolben mehr als in denjenigen, welche ohne jeden Zusatz geblieben waren.

Wenn die Funktion des Kaliums für die grüne Pflanze sich nur gründete auf die geringe Radioaktivität dieses Elementes, wie Zwaardemaker gezeigt hat, dasz bei mehreren physiologischen Reaktionen in tierischen Geweben der Fall ist, und wie Stocklasa 11) und Mitarbeiter für verschiedene Reaktionen in der Pflanze behauptet haben, würde das Rubidium, ein etwa eben so starker β Strahler wie das Kalium, dessen Einwirkung verstärken, Eine ähnliche Wirkung wurde aber nicht beobachtet.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dasz das Kalium für das Wachstum dieser ziemlich hoch stehenden Grünalge nicht von einem anderen Elemente ersetzt werden kann.

5. Der Einflusz von Kalziumsalzen und Phosphaten auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Als ich ähnliche Kulturversuche, wie sie mit den Alkalimetallen gemacht worden waren, mit einem wechselenden Gehalt an Kalziumsalzen anstellte, zeigte es sich, dasz das Verhältnis ein viel komplizierteres ist.

Mehrere Forscher u. a. Molisch (loc. cit.) und Benecke 12) haben für einzellige Algen, wie für Spaltpilze, doch auch für *Stichococcus bacillaris*, eine der niedrigsten Ulotrichales, die Unabhängigkeit des Wachstums von der Anwesenheit des Kalziums verfochten. Ardjarof 13) hält es jedoch für ein wahrscheinlich notwendiges Element, da ohne Kalziumzusatz das Wachstum bald aufhört.

In meine Versuchsreihen wurde das Kalziumchloride in der normalen Lösung ganz oder teilweise von Kaliumchloride ersetzt.

Tabelle 4.

Der Einflusz verschiedener Mengen Kalziums auf das Wachstum von Stichococcus bacilaris.

1ste Reihe.

$CaCl_2$ und KCl in 250 cm^3 der sonst „normalen" Lösung	Abgelesenes Algenvolumen nach 14 Tagen pro 10 cm^3.	P_H. der Nährlösung am Ende des Versuches.
0,200 g $CaCl_2$.	0,045 cm^3	4
0,187 g „	0,005 cm^3	6
0,175 g „	0,105 cm^3	5
0,135 g „	0,078 cm^3	4
0,100 g „	0,045 cm^3	4
0,050 g „	0,090 cm^3	4
0,025 g „	0,095 cm^3	5
0,015 g „ 0,0134 g KCl. .	0,105 cm^3	5,5
0,010 g „ 0,0201 g „	0,095 cm^3	6
0,005 g „ 0,0268 g „	0,080 cm^3	6,5
0,0025 g „ 0,0335 g „	0,055 cm^3	6,5
0,0010 g „ 0,0335 g „	0,050 cm^3	7,0
0,0005 g „ 0,0335 g „	0,020 cm^3	7,5
0,0000 g „ 0,0335 g „	0,003 cm^3	8,0

Tabelle 5,

Der Einflusz verschiedener Mengen Kalziums auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

2te Reihe.

$CaCl_2$ und KCl in 250 cm^3 der sonst „normalen" Lösung	Abgelesenes Algenvolumen nach 15 Tagen pro 10 cm^3.	P_H. der Nährlösung am Ende des Versuches.
0,250 g $CaCl_2$.	0,11 cm^3	5
0,200 g „	0,07 cm^3	5,5
0,187 g „	0,00 cm^3	6,0
0,175 g „	0,03 cm^3	6.0
0,138 g „	0,12 cm^3	4
0,100 g „	0,07 cm^3	4
0,075 g „	0,04 cm^3	4
0,050 g „	0,13 cm^3	4
0,025 g „	0,12 cm^3	4
0,010 g „ 0,0201 g KCl. .	mit Pilzen infiziert	—
0,002 g „ 0,0335 g „	0,02 cm^2	6,0
0,000 g „ 0,0335 g. „	0'005 cm^3	6,5

Aus diesen Tabellen und der bezüglichen graphischen Darstellung Fig. IV geht hervor, dasz kein Wachstum möglich ist, wenn kein Kalziumsalz zugesetzt worden ist und dasz das Kalzium also auch zu den für diese Alge notwendigen Elementen zu rechnen ist.

Auch sieht man aus diesen Versuchen, dasz die Beziehung zwischen der zugesetzten Menge Kalziumsalzes und dem eingetretenen Wachstum eine sehr komplizierte ist. Da dieses vielleicht von der Azidität der Lösung veranlasst wurde, wurde am Ende des Versuches die Wasserstoffionenkonzentration mittels des Universal Indicators der British Drug Houses bestimmt. Dieser gemischte Indicator erlaubt eine Abschätzung von Wasserstoffionenkonzentrationen zwischen $P_{H^\cdot} = 3$ und $P_{H^\cdot} = 11$. Die gefundenen Werte sind im letzten Spalt obiger Tafel aufgenommen worden. Weiteres findet man am Ende dieses Kapitels.

Schlieszlich ergab es sich, dasz bei einem Verhältnis von

Tabelle 6.

Der Einflusz verschiedener Mengen Phosphats auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

1ste Reihe.

K_2HPO_4 und K_2SO_4 in 250 cm³ der sonst „normalen" Lösung.	Abgelesenes Algenvolumen nach 14 Tagen pro 10 cm³.	Stickstoffgehalt in den Zellen.
0,0525 g K_2HPO_4	0,14 cm³	7,2 mgr.
0,0525 g „ 0,05 g K_2SO_4	0,14 cm³	7,5 mgr.
0,0364 g „ 0,01 g „	0,09 cm³	3,42 mgr.
0,0210 g „ 0,035 g „	0,005 cm³	0,2 mgr.
0,0105 g „ 0,050 „	0,000 cm³	0,0 mgr.
0,0042 g „ 0,050 „	0,000 cm³	0,0 mgr.
0,0021 g „ 0,050 „	0,000 cm³	0,0 mgr.
0,0010 g „ 0,050 „	0,000 cm³	0,0 mgr.
0,0000 g „ 0,050 „	0,000 cm³	0,0 mgr.

unweit 1 Gramions PO_4''' auf 2 Gramionen $Ca^{\cdot\cdot}$ kein Wachstum eintrat. Wenn man nicht die Kalzium- sondern die Phosphatkonzentration ändert, ist Wachstum nur möglich bei einer Phosphatkonzentration, gröszer als diejenige welche dieses Verhältnis entspricht., wie man aus den Tabellen 6, 7 und 8 und der dazu gehörigen graphischen Darstellung V sieht. In diesen Versuchen wurde das Dikalium-phosphat ganz oder teilweise von Kaliumsulfat ersetzt.

In den folgenden Versuchsreihen wurde neben den Versuchen mit Kolben, denen ausser der „normalen" Menge noch mehr Dikalium-phosphat zugesetzt worden war, immer ein Kontrollkolben eingesetzt, welche eine dem Extrazusatz equivalente Menge Dinatrium-phosphat enthielt.

Tabelle 7.

Der Einflusz von verschiedenen Mengen Phosphats auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

2te Reihe.

$K_2 HPO_4$, $Na_2 HPO_4$ und $K_2 SO_4$ in 250 cm³ der sonst „normalen" Lösung			Abgelesenes Algen-volumen nach 11 Tagen pro 10 cm³.	P_H. der Lösung am Ende des Versuches.
0,200 g	$K_2 HPO_4$		0,064 cm³	6,5
0,050 g	„	0,135 g $Na_2 HPO_4$	0,070 cm³	7,0
0,150 g	„		0,062 cm³	5,5
0,050 g	„	0,090 g „	0,068 cm³	6,0
0,100 g	„		0,045 cm³	5,0
0,050 g	„	0,045 g „	0,050 cm³	4,5
0,050 g	„		0,045 cm³	4,0
0,040 g	„	0,010 g $K_2 SO_4$	0,023 cm³	4
0,030 g	„	0,020 g „	0,013 cm³	4
0,020 g	„	0,030 g „	0,005 cm³	4
0,000 g	„	0,050 g „	0,000 cm³	4

Tabelle 8.

Der Einflusz von verschiedenen Mengen Phosphats auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

3te Reihe.

K_2HPO_4, Na_2HPO_4 und K_2SO_4 in 250 cm^3. der sonst „normalen" Lösung			Abgelesenes Algenvolumen nach 13 Tagen pro 10 cm^3
0,300 g	K_2HPO_4		0,14 cm^3
0,050 g	„	0,225 g Na_2HPO_4	0,14 cm^3
0,200 g	„		0,090 cm^3
0,050 g	„	0,135 g „	0,097 cm^3
0,150 g	„		0,090 cm^3
0,050 g	„	0,090 g „	von Spaltpilzen infiziert
0,100 g	„		0,065 cm^3
0,050 g	„	0,045 g „	0,070 cm^3
0,080 g	„		0,060 cm^3
0,050 g	„	0,027 g „	0,060 cm^3
0,050 g	„		0,055 cm^3
0,040 g	„	0,010 g K_2SO_4	0,042 cm^3
0,030 g	„	0,020 g „	0,025 cm^3
0,025 g	„	0,025 g „	0,020 cm^3
0,020 g	„	0,030 g „	0,010 cm^3
0,010 g	„	0,040 g „	0,000 cm^3
0,000 g	„	0,050 g „	0,000 cm^3

Die graphische Darstellung dieser Ergebnisse zeigt eine stufenförmige Kurve. Die Faltpunkte dieser Kurve haben nicht die Absziswerte, welche die Verhältnisse von Kalzium und Phosphat, die in den Kalziumphosphaten realisiert worden sind, bezeichnen. Dieses war durch das, in einer ähnlichen, viele Komponenten enthaltenden Lösung sich einstellende Gleichgewicht, nicht zu erwarten. Das Wachstum ist fast ganz ebenso schnell ob man Dikalium- oder auch eine equivalente Menge Dinatriumphosphat der

normalen Lösung zusetzt, und wird bestimmt von der Art und Menge der Phosphationen (PO_4''', HPO_4'', H_2PO_4'). Eine quantitative Analyse dieser Ionen wird aber sehr beschwerlich sein, um so mehr, da während des Wachstums die Wasserstoffionenkonzentration sich ändert, wie im Folgenden näher erörtert wird.

Bei Betrachtung der am Ende der Versuche ermittelten Wasserstoffionenkonzentrationen ergibt es sich, dasz in den Reihen abnehmender Phosphatkonzentration die Lösung

Tabelle 9.

Die Aenderung der potentiometrischen und titrimetrischen Azidität während des Wachstums von Stichococcus bacillaris.

Alter der Kultur	P_H	Titrimetrische Azidität in cm^3 0,01 n Lauge pro 10 cm^3 Kulturlösung.
1 Tag	6,5	2,2 cm^3
—	—	—
3 Tage	6,5	2,5 cm^3
4 „	6,5	2,5 cm^3
5 „	6,3	2,5 cm^3
6 „	6,3	2,6 cm^3
7 „	6,3	2,6 cm^3
—	—	—
9 „	5,5	2,8 cm^3
—	—	—
11 „	4,0	2,9 cm^3
12 „	3,3	2,9 cm^3
13 „	3	3,2 cm^3
14 „	3	3,7 cm^3
—	—	—
16 „	3	4,1 cm^3
17 „	3	4,3 cm^3

am Ende des Versuches schwächer sauer reagiert, je mehr Diphosphat zugesetzt worden war. Da das fast neutral reagierende Diphosphat die einzige Puffersubstanz in der Nährlösung bildet, ist dieses Verhalten ganz normal.

Von den Reihen abnehmender Kalziumkonzentrationen kann man ganz allgemein sagen dasz ein üppigeres Wachsstum eine höhere Azidität der Lösung am Ende des Versuches zur Folge hat. Um dieses genauer zu erforschen wurden Kulturen in der normalen Lösung angestellt, in Kolben deren Pfropfen noch eine dritte Durchbohrung hatten, wodurch ein zweifach gebogenes Glasrohr gesteckt worden war. Mittels eines Hahnes in diesem Rohre wurde täglich eine Probe der Lösung genommen. In einer solchen Probe wurden die potentiometrische und die titrimetrische Azidität zu Phenolphtaleïn bestimmt. Die Resultate dieser Bestimmungen sind in der Tabelle 9 vereinigt worden.

Eine geringe doch merkliche Säurebildung konnte also konstatiert worden. Eine Kulturflüssigkeit der ausserdem 2 % Glucose zugesetzt worden war, zeigte ein ähnliches Verhalten. Die geringe Steigerung der titrimetrischen Azidität betrachtend, ist es sehr wahrscheinlich, dasz die Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration von einer starken anorganischen Säure veranlasst wird. Dieses kann der Fall sein wenn z.B. aus der normalen Flüssigkeit für die Eiweissynthese fast nur Ammoniakstickstoff resorbiert wird, und der Nitratstickstoff in der Lösung bleibt, eine Annahme die im Folgenden Bestätigung findet.

6. Der Einflusz von anorganischen Stickstoffverbindungen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Dasz es von Nutzen ist für diese Algen als Stickstoffquelle Ammoniumsalze zu verwenden, geht aus den in Tabelle 10 zusammengefassten Versuchen hervor. Es wurde

in der „normalen" Nährlösung das Ammoniumnitrat folgenderweise ersetzt:

Tabelle 10.

Der Einflusz von anorganischen Stickstoffverbindungen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Ersatz des Ammoniumnitrats in 250 cm^3 sonst „normaler" Lösung	Abgelesenes Algenvolumen nach 14 Tagen pro 10 cm^3 Kulturlösung.
0,100 g NH_4NO_3	0,135 cm^3
0,067 g NH_4Cl	0,105 cm^3
0,106 g $NaNO_3$	0,040 cm^3

Es zeigt sich, dasz Stichococcus bacillaris einen guten Ertrag liefert in anorganischen Nährlösungen, welche Ammoniumsalze als Stikstoffquelle enthalten. Da Ammoniumnitat leicht zu reinigen ist und am bequemsten bei dem Ersatz

Tabelle 11.

Der Einflusz verschiedener Ammoniumnitratmengen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Ammoniumnitrat in 250 cm^3 der sonst „normalen" Lösung	Abgelesenes Algenvolumen nach 14 Tagen pro 10 cm^3	Kjeldahlstickstoff in den zentrifugierten Zellen.
0,250 g NH_4NO_3 . . .	0,28 cm^3	9,35 mg N.
0,187 g „ . . .	0,23 cm^3	—
0,135 g „ . . .	0,18 cm^3	5,4 mg. „
0,075 g „ . . .	0,16 cm^2	—
0,050 g „ . . .	0,14 cm^3	5,3 mg. „
0,037 g „ . . .	0,14 cm^3	5,0 mg. „
0,025 g „ . . .	0,14 cm^3	4,6 mg. „
0,0125 g „ . . .	0,09 cm^3	2,1 mg. „
0,005 g „ . . .	0,06 cm^3	1,1 mg. „
0,002 g „ . . .	0,05 cm^3	0,7 mg. „
0,000 g „ . . .	0,005 cm^3	0,0 mg. „

der sonstigen notwendigen Elemente von anderen, wurde dieses gewählt.

Die Kurve, welche die Beziehung zwischen der Ernte und der Menge zugefügtes Ammoniumnitrat gibt, zeigt eine sehr regelmässige Form. Man sehe die Tabelle 11 und die graphische Darstellung Fig. VI.

Die gefundenen Kurven weichen von denen der Kaliumversuche (Fig. II) ab, da die Wachstumsgeschwindigkeit im ganzen untersuchtem Gebiete mit der Ammoniumnitratkonzentration zunimmt, auch wenn, wie aus den Zahlen der Kjeldahlbestimmungen folgt. nur eine ganz geringe Fraktion des Stickstoffs absorbiert wird. Im stickstoffarmen Gebiete ist aller oder fast aller Nitrat zu Aminoverbindungen reduziert worden.

Da in der Kulturflüssigkeit mit 5 mg. Ammoniumnitrat nach dem Abzentrifugieren der Algen mit Nesslerreagenz kein Ammoniak mehr nachgewiesen werden konnte, war hier die Ammoniumionenresorption der der Nitrationen weit überlegen.

7. Der Einflusz der Menge und der Art der Schwefelverbindung auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Auf ähnliche Weise wurde das Wachstum von *Stichococcus bacillaris.* bei wechselnder Konzentration des Sulfations bestimmt. In der normalen Flüssigkeit wurde das Magnesiumsulfat in wechselender Mengen zugesetzt und wo notwendig Magnesiumchlorid zugegeben. Die Resultate dieses Versuches sind in der Tabelle 12 gesammelt worden. Es geht hieraus hervor, dasz diese Algen zum üppigen Gedeihen nur wenig Sulfat brauchen. Im folgenden Kapitel wird erörtert, dasz die angeblich giftige Wirkung grösserer Mengen Bittersalzes auf das Magnesium zurückzuführen sei.

Tabelle 12.

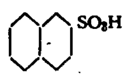
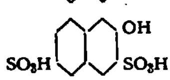
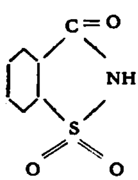
Der Einflusz wechselender Sulfatmengen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

$MgSO_4$ und $MgCl_2$ in 250 cm^3 sonst „normaler" Lösung	Abgelesenes Algenvolumen nach 22 Tagen pro 10 cm^3 Nährlösung
0,4 g $MgSO_4$ 7aq	0,13 cm^3
0,3 g „	0,13 cm^3
0,2 g „	0,18 cm^3
0,1 g „	0,19 cm^3
0,04 g „ 0,03 g $MgCl_2$. .	0,22 cm^3
0,02 g „ 0,04 g „	0.25 cm^3
0,004 g „ 0,05 g „	0,19 cm^3
0,000 g „ 0,05 g „	0,02 cm^3

In der bezüglichen Literatur 14 heiszt es, dasz die Grünalgen für ihr Schwefelbedürfnis nur Sulfationen verwenden können, obwohl dieses niemals eingehend untersucht worden ist. Um eine Uebersicht zu bekommen wurden die in Tabelle 13 beschriebenen Kulturversuche angestellt, in denen statt des Magnesiumsulfats die genannten Schwefelverbindungen und eine equivalente Menge Magnesiumchlorid benutzt wurden. Mit jeder Verbindung wurde eine Kulturlösung gemacht, die 0,0004 gramatom Schwefel pro Liter enthielt; wenn nötig wurden die organischen Säuren mittels Natriumbicarbonat vorher neutralisiert. Mehrere dieser Verbindungen sind schwer in Wasser löslich, oder geben mit den Ionen der Nährlösung Präzipitate, welche auch beim Ansäuern vor dem Abzentrifugieren sich nicht lösen. Es sind also die abgelesenen Algenvolumina weniger genau als bei den sonstigen Versuchen.

Tabelle 13.

Der Einflusz mehrerer Schwefelverbindungen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Die an der sonst „normalen" Nährlösung zugesetzte Schwefelverbindung	Abgelesenes Algenvolumen nach 22 Tagen pro 5 cm^3 Kulturlösung.
Na_2SO_4. Natriumsulfat	0,32 cm^3
$Na_2S_2O_3$ Natriumthiosulfat	0,30 cm^3
Na_2S Natriumsulfid	kein Wachstum
NH_4CNS Rhodanammonium	kein Wachstum
p. $C_6H_4 . NH_2 . SO_3H$ Sulfanilsäure . . .	kein Wachstum
 Naphtalin Sulfonsäure.	0,04 cm^3
 R-Säure	0,12 cm^3
$NH_2(CH_2)_2SOH_3$ Taurin	0,13 cm^3
$NH_2 . CHCOOH . CH_2 S$ / $NH_2 . CHCOOH . CH_2 S$ Cystin	0,03 cm^3
$CH_2 = CH.S.S.CH{=}CH_2$ Allylsulfid . .	0,01 cm^3
$NH_2 . CS . NH_2$ Schwefelharnstoff	0,07 cm^3
 Saccharin	kein Wachstum
Ohne Schwefelzusatz	0,02 cm^3

Für diese Versuche wurde Na_2SO_3 nicht benutzt weil es immer sulfathaltig ist In einer zweiten Serie wurden bei den Kulturen überschüssiges Bariumchlorid an die Lösung zugefügt. (Tabelle 14).

Tabelle 14.

Einflusz einiger Schwefelverbindungen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris bei Anwesenheit überschüssiger Mengen Bariumchlorids.

Die an sonst der „normalen" Lösung zugesetzte Verbindungen	Beobachtetes Wachstum.
Na_2SO_4 + Ba Cl_2	nur wenig
$Na_2S_2O_3$ + Ba Cl_2	stark
R-Säure + Ba Cl_2	stark
Schwefelharnstoff + Ba Cl_2 . . .	stark
Ohne Schwefelzusatz	einiges Wachstum, doch viele tote Zellen.

Das Bariumsulfat und Bariumphosphat erschwerte in dieser Versuchsreihe die quantitative Wachstumsbestimmung.

Wenn man aber ähnliche Versuchsreihen macht in denen kein Luftstrom mit erhöhtem Kohlensäuregehalt durch die Nährlösungen sprudelt, sondern die Kolben mittels eines Watte-Pfropfens verschlossen sind, so tritt nur in einigen Kolben Wachstum ein. (Tabelle 15).

Tabelle 15.

Einflusz einiger Schwefelverbindungen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris bei Anwesenheit überschüssiger Mengen bariumchlorids, ohne Luftdurchführung, am Tageslicht.

Zugesetzte Schwefel- und Bariumverbindung.	Wachstum nach 60 Tagen.
Mg SO_4	sehr gut
Mg SO_4 + Ba Cl_2	etwas
Na_2 S_2O_3 + Ba Cl_2 + Mg Cl_2	kein
1.5 α Naphtylaminsulfonsäure + Ba Cl_2 + Mg Cl_2	kein
R-säure + Ba Cl_2 + Mg Cl_2.	gut
Schwefelharnstoff + Ba Cl_2 + Mg Cl_2 .	kein

Beim Betrachten dieser Versuchsreihe zeigt es sich, dasz mehrere Schwefelverbindungen, u. a. Schwefelharnstoff, Natriumthiosulfat, gutes Wachstum ermöglichen, wenn ein Luftstrom durchgeführt wird, dasz sie jedoch ohne Aeration nicht assimilierbar sind.

Das, in Nährlösungen, die $MgSO_4 + BaCl_2$ enthalten, eingetretene Wachstum ist ganz wie das ohne Schwefelzusatz eingetretene, dem im Impfmaterial gebundenen Schwefel zu verdanken.

Da Bariumsalze keine giftige Wirkung zeigen, ist es einleuchtend, dasz für das Wachstum von St. bacillaris keine Sulfationen notwendig sind und dasz es in den Zellen deren entweder keine gibt, oder dasz die Plasmaschicht den Bariumionen impermeabel ist. Auch organische schwefelhaltige Stoffe wie R-Säure sind gut assimilirbar.

8. Der Einflusz wechselender Mengen Magnesiums auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Die Kulturen dieser Reihe wurden nicht nach dem Warburgschen Verfahren gezüchtet, sondern in von einem Wattepfropfen verschlossenen Erlenmeyerkolben gezogen.

Tabelle 16.

Einflusz wechselnder Mengen Magnesiums auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Magnesium und Sulfat in 150 cm^3 der sonst „normalen" Nährlösung.	Abgelesenes Algenvolumen nach 60 Tagen pro 10 cm^3 Kulturlösung.
0,000 g $MgSO_4$ + 0,044 g K_2SO_4 . .	0,000 cm^3
0,003 „ „ + 0,040 „ „ . .	0,025 „
0,006 „ „ + 0,035 „ „ . .	0,060 „
0.015 „ „ + 0,020 „ „ . .	0,065 „
0,030 „ „ +	0,075 „
0,150 „ „ +	0,070 „
0,300 „ „	0,040 „

In die Kulturlösungen der Versuche der Tabelle 16 wurde das Magnesiumsulfat ganz oder teilweise von Kaliumsulfat ersetzt oder wohl Magnesiumsulfat zugefügt.

Sowohl bei diesen Versuchen, als auch bei denen der Sulfatserie (Tabelle 12), wurde ein schädlicher Einflusz höherer Konzentrationen Magnesiumsulfats beobachtet. Es war also notwendig den Einflusz dieser zwei Ionen zu rennen. Es wurden folgende Kulturen angestellt:

Tabelle 17.

Einflusz gröszerer Mengen Magnesiums und Sulfats auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

An der völlig „normalen" Kulturlösung wurde zugesetzt:	Abgelesenes Algenvolumen in 60 Tagen pro 10 cm^3 der Kulturlösung.
nichts	0,095 cm^3
0,044 g K_2SO_4 . . .	0,105 „
0,110 „ „ . . .	0,095 „
0,220 „ „ . . .	0,100 „
0,440 „ „ . . .	0,100 „
0,880 „ „ . . .	0,090 „
nichts	0,100 „
0,036 g Mg NO_3 . .	0,075 „
0,090 „ „ . .	0,030 „
0,180 „ „ . .	0,030 „
0,360 „ „ . .	0,030 „
0,720 „ „ . .	0,015 „

Es ist also ganz klar, dasz nicht die Sulfat sondern die Magnesiumionen das Wachstum beim Zusatz gröszerer Mengen des Bittersalzes beeinträchtigen.

9. Der Einflusz der Menge des Eisens auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Während für Volvocales schon bei sehr geringen Eisenkonzentrationen (bei *Haematococcus pluvialis* 0.005 % bis 0.0025 % Fe Cl_3, Jacobsen 15), und *Volvox globator*

und *V. minor* 0.00005 % Fe_2O_3 E. E. Uspenski und W. J. Uspenskaja 16) ein dem Wachstum sehr schädlichen Einflusz konstatiert werden konnte, ist *Stichococcus bacillaris* dem Uebermasz Eisen gegenüber ziemlich indifferent. Tabelle 18 gibt das Ergebnis der Kulturen in, dem Tageslichte ausgesetzten und von einem Wattepfropfen verschlossenen, Kolben. Das Eisen wurde als Ferri-ammoniumsulfatlösung bekannter Konzentration den Kolben zugesetzt.

Tabelle 18.

Einflusz des Eisens auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Ferrioxyd in 200 cm^3 der sonst „normalen" Kulturlösung.	Abgelesenes Algenvolumen nach 40 Tagen pro 10 cm^3 Kulturlösung.
0,00000 g Fe_2O_3 . .	0,04 cm^3
0,00001 „	0,06 „
0,00005 „	0,06 „
0,00010 „	0,06 „
0,00050 „	0,06 „
0,001 „	0,07 „
0,005 „	0,07 „
0,010 „	0,06 „
0,030 „	Ein normales Wachstum wurde beobachtet, die Messung aber von voluminösen Ferriphosphat gehindert.

Bei diesem Versuche entstand immer in den Kolben ein eisenreiches Präzipitat. Um mögliche so verursachte Fehler zu beseitigen wurde auch eine Versuchsreihe angestellt in der das Eisenion von überschüssigen Mengen Zitronensäure in Lösung gehalten wurde, wie von Uspenski und Uspenskaja beschrieben worden ist. Auch in den Kolben

dieser Serie zeigte es sich, dasz das Eisen in Konzentrationen bis 0.015 % Fe_2O_3 keinerlei hemmenden Einflusz ausübte. Nur war das Wachstum im ganzen etwas intensiver als ohne Zitratzusatz (Mixotrophe Algenernährung).

10. Der Einflusz geringer Mengen Zinks auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Als Beispiel der „Reizstoffe" wurde von mir der Einflusz von ganz geringen Mengen Zinksulfats untersucht. An einer normalen Kulturlösung wurden zunehmende Mengen Zinksulfats zugesetzt. Die Kulturen wurden ohne Luftdurchführung dem Tageslichte ausgesetzt.

In Tabelle 19 sieht man, dasz das Zinksulfat eine bedeutende Steigerung der Ausbeute ergab, besonders bei geringer Konzentration und dasz die Wirkung schon bei $7{,}10^{-9}$ % deutlich hervortrat. Die optimale Konzentration scheint unter diesen Verhältnissen etwa bei $7{,}10^{-7}$ % zu liegen.

Tabelle 19.

Einflusz geringer Mengen Zinksulfats auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Zugesetztes Zinksulfat pro 100 cm^3 „normaler" Nährlösung.	Abgelesenes Algenvolumen nach 60 Tagen pro 100 cm^3.
ohne Zusatz	0,09 cm^3
$7{,}10^{-9}$ % $ZnSO_4$ . .	0,11 „
$7{,}10^{-8}$ % „ . .	0,12 „
$7{,}10^{-7}$ % „ . .	0,20 „
$7{,}10^{-6}$ % „ . .	0,11 „
$7{,}10^{-5}$ % „ . .	infiziert
$7{,}10^{-4}$ % „ . .	0,08 cm^3.
$7{,}10^{-3}$ % „ . .	0,05 „

11. Mixotrophe und heterotrophe Ernährung von Stichococcus bacillaris Näg.

Bei den bisherigen Versuchen waren die einzige assimilierbare Kohlenstoffverbindungen, die im Wasser gelöste Kohlensäure, und die daraus mit den Salzen der Lösung gebildeten Carbonate und Bicarbonate.

Bei ganz heterotropher Ernährung (die Kulturkolben wurden in einen ganz dunklen Schrank gestellt und den Kulturen 0,5% Kohlenhydrat zugesetzt) trat nur bei Zusatz von Glucose, Fructose oder Saccharose gutes Wachstum ein. Einige Algenentwicklung war möglich in solchen Nährlösungen, welche Maltose oder Dextrin enthielten, wahrscheinlich von beim Sterilisieren entstandener Monose. Kolben mit Inosit, Phytin, lösliches Amylum, Glycerin Lactose, Galactose, Rhamnose, Arabinose, Mannose und Erythrit waren ohne jegliche Algenentwicklung. In diesen Versuchen war Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle benutzt worden. Gleichzeitiger Zusatz von Kohlenhydrat und 0.1% Pepton (Witte) gab bei heterotropher Ernährung keine bedeutende Steigerung der Algenausbeute.

Bei den Versuchen über mixotrophe Algenentwickelung wurden die Kolben, wie bei den Versuchen mit autotropher Ernährung, dem elektrischen Lichte ausgestellt und bekamen als Kohlenstoffzusatz neben der Luft mit erhöhtem Kohlensäuregehalt 0.5% eines Kohlenhydrats.

Die so gezüchteten Algen entwickelten sich auf fast jedem Kohlenhydrate weitaus günstiger als ohne Zusatz von organisch gebundenem Kohlenstoff.

Ganz ausserordentlich aber war das Wachstum in einem Kolben dem ausserdem 0.1 % Pepton (Witte) zugesetzt worden war. In 20 Tagen war etwa das 6-fache Algenvolumen des Kontrollversuches mit autotropher Ernährung erzielt worden.

12. Der Einflusz sonstiger Kulturbedingungen auf das Wachstum einer Kultur in der ein Faktor im Minimum ist.

Von W. Benecke 17) und E. G. Pringsheim 18) ist nachgewiesen worden, dasz der Ertrag einer Pilzkultur, in der ein Faktor im Minimum ist, von der Konzentration der sonstigen Nährstoffe beeinfluszt wird. Benecke änderte gleichzeitig das Magnesium- und das Kaliumgehalt seiner Lösung, Pringsheim Zucker und Stickstoff.

In dieser Versuchsreihe benutzte ich Kolben in denen das Ammoniumnitrat in sehr geringen Mengen zugesetzt worden war, und die ausserdem wechselnde, viel gröszere Mengen Kaliumphosphat enthielten. Diese Kulturen wurden nicht künstlich beleuchtet, sondern von einem Wattepfropfen verschlossen dem Tageslichte ausgestetzt.

Tabelle 20.

Einflusz gleichzeitiger Aenderung des Ammoniumnitrats und des Kaliumphosphats auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Ammoniumnitrat und Kaliumphosphat in 300 cm³ der sonst „normalen" Kulturlösung:	Abgelesenes Algenvolumen nach 100 Tagen pro 100 cm³ Kulturlösung:
0.000 g NH_4NO_3 + 0,09 g K_2PHO_4	0,000 cm³
0,001 „ „ + 0,09 „ „	0,010 „
0,012 „ „ + 0,09 „ „	0,025 „
0,120 „ „ + 0,09 „ „	0,040 „
0,000 „ „ + 0,18 „ „	0,000 „
0,001 „ „ + 0,18 „ „	zerbrochen
0,012 „ „ + 0,18 „ „	0,040 cm³
0,120 „ „ + 0,18 „ „	0,060 „
0,000 „ „ + 0,36 „ „	0,000 „
0,001 „ „ + 0,36 „ „	0,010 „
0,012 „ „ + 0,36 „ „	0,060 „
0,120 „ „ + 0,36 „ „	0,070 „

Aus den in Tabelle 20 zusammengefaszten Resultaten zeigt es sich, dasz die von Pringsheim gegebene Formulierung seiner Resultate: „Bei Besserung der sonstigen Lebensbedingungen oder Verringerung der Menge eines Nährstoffes wird dieser in Minimum vorhandene immer besser ausgenutzt" auch für Kulturen dieser Grünalgen gültig ist.

13. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Alle Versuche wurden mit einer Reinkultur einer Grünalge, die als *Stichococcus bacillaris* Näg. bestimmt wurde, gemacht.
2. Die Mehrzahl der Kulturen wurde in der von Warburg angegebenen Methode gezogen, indem die Algen in flüssigen Media unter künstlicher Beleuchtung gezogen wurden und Luft mit erhöhtem Kohlensäuregehalt durch die Gefässe geleitet wurde.
3. Es wurde gezeigt, dasz Kalium für Stichococcus bacillaris notwendig und nicht von einem anderen Alkalimetall ersetzbar ist.
4. Auch Kalzium ist für das Wachstum unentbehrlich. Die relative Konzentration in Bezug zu der des Phosphats ist von besonderer Wichtigkeit.
5. Während des Wachstums wird ein zunehmender Säuregehalt der Nährlösung beobachtet, die dem Anschein nach durch selective Ionenabsorption aus der Nährlösung verursacht wird.
6. Es wurde gezeigt dasz *Stichococcus bacillaris* auch organisch gebundenen Schwefel assimiliren kann und dasz das Barumion keine Giftwirkung ausübt auf das Wachstum dieser Alge.
7. Magnesiumsalze sind notwendig aber schon in geringer Konzentration der Alge schädlich.
8. Im Gegensatz zu den Volvocales ist *Stichococcus*

bacillaris gröszeren Mengen Eisen gegenüber ziemlich indifferent.

9. Zinksulfat stimulirt das Wachstum von Stichococcus.
10. Die Alge kann nur auf Saccharose und deren Monosen heterotroph gezogen werden. Mixotroph sind die meisten Kohlenhydrate dem Wachstum günstig. Pepton ist dem Wachstum am Lichte sehr vorteilhaft.
11. Bei gleichzeitiger Variation mehrerer Nährstoffe zeigt es sich dasz diese unabhängig von einander Einflusz auf das Wachstum ausüben.

Delft, Laboratorium für Technische Botanik der Technischen Hochschule.

Literatur.

1) A. Pascher. Die Süszwasserflora Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz. Heft 6 (1914).
2) G. Lindau. Die Algen. 2e Abt. (1914).
3) R. Chodat. Monografies des algues en culture pure. (1913).
4) O. Warburg. Biochemisches Zeitschrift **100**, (1919) S. 230.
5) Tromsdorf. Archiv für Hygiene **59**, (1906) S. 242. J. Tillmans und R. Strohecker in Abderhaldens Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden Abt. IV Teil **8**, 1 S. 586 (1923).
6) Th. Weevers. Recueil des Travaux botaniques néerlandais **8** (1911), S. 289.
7) S. Winogradsky. Botanisches Centralblatt **20** (1884), S. 165.
8) W. Benecke. Botanische Zeitung **65**, (1907) S. 1.
9) ——— Jahrbücher der Wissenschaftlichen Botanik **28**. (1895) S. 284.

10) H. Molisch. Sitzungsberichte Academie Wien **104**, (1895) S. 783. **105**, (1896) S. 633.
11) J. Stoklasa. J. Šebor, Hromadka, W. Zdobnický. Biochemisches Zeitschrift **108**, (1920) S. 109.
12) W. Benecke. Botanische Zeitung **56**, (1898) S. 83.
13) M. Ardjarof. Diss. Genf. 1910. Chodat. Monografies des algues en culture pure. 1913.
14) Fr. Oltmanns. Morphologie und Biologie der Algen Bd. III, (1924) S. 156.
15) H. C. Jacobsen. Folia Microbiologica **1**, (1912) 163.
16) E. E. Uspenski und W. J. Uspenskaja. Zeitschrift für Botanik **17**, (1925) 273.
17) W. Benecke, Lafar's Handbuch der technischen Mycologie.
18. E. G. Pringsheim, Zeitschrift für Botanik **6**,(1914)600.

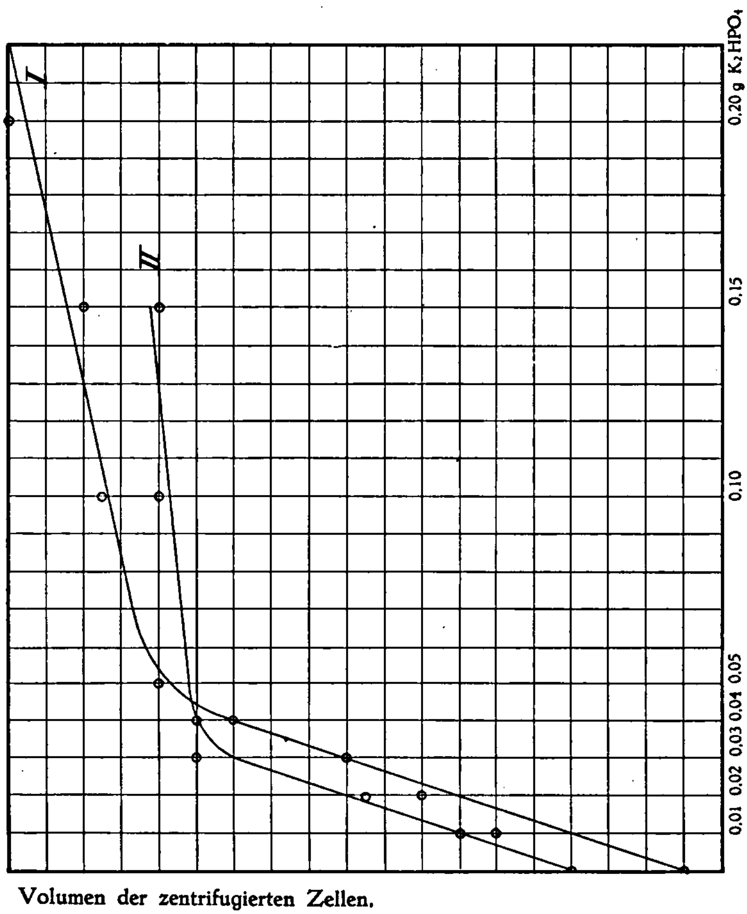
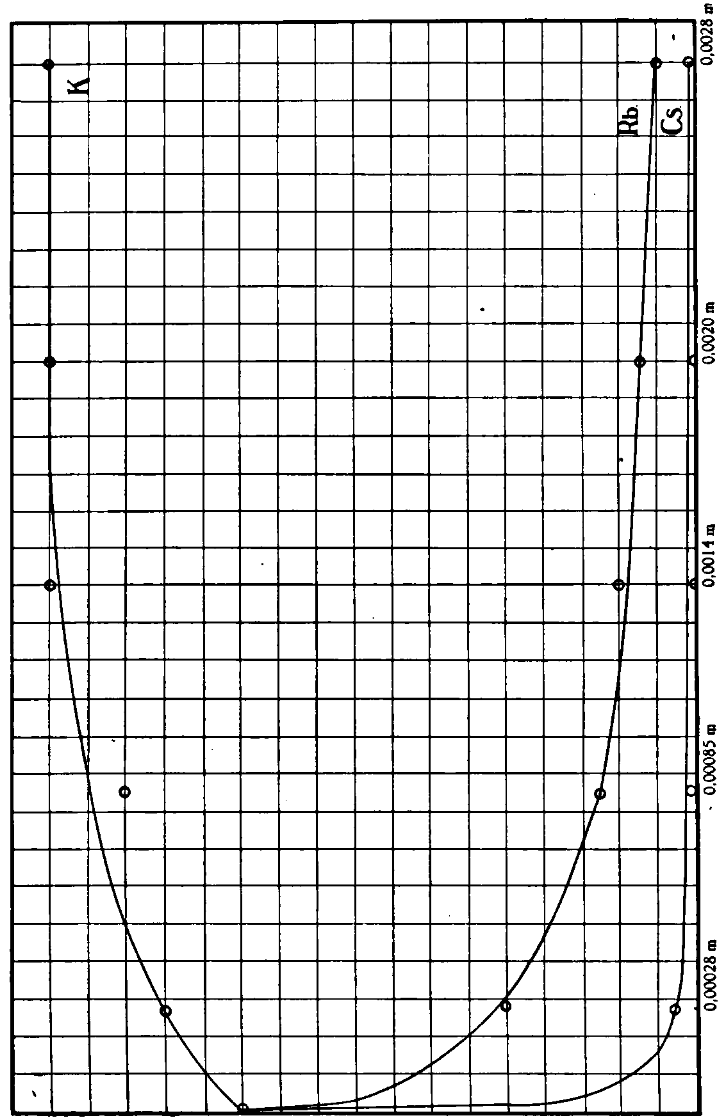


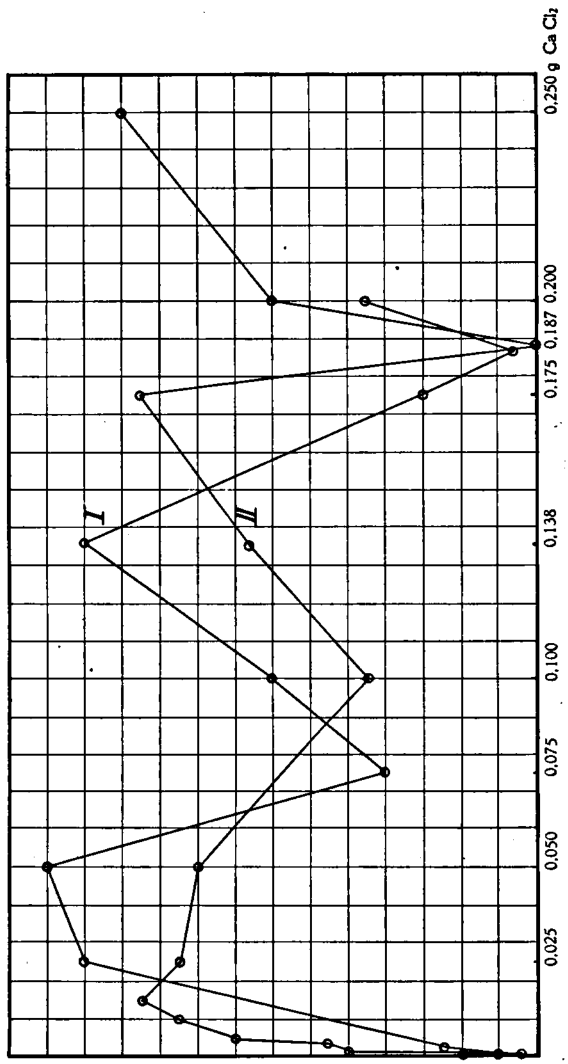
Fig. II. Der Einflusz des K_2HPO_4 auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

Fig. III. Der Einflusz von Kalium-, Rubidium- und Caesiumionen auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.



Volumen der zentrifugierten Zellen.

Fig. IV. Der Einflusz verschiedenen Mengen Kalziums auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.



Volumen der zentrifugierten Zellen.

Fig. V. Der Einflusz der Phosphatmenge auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.

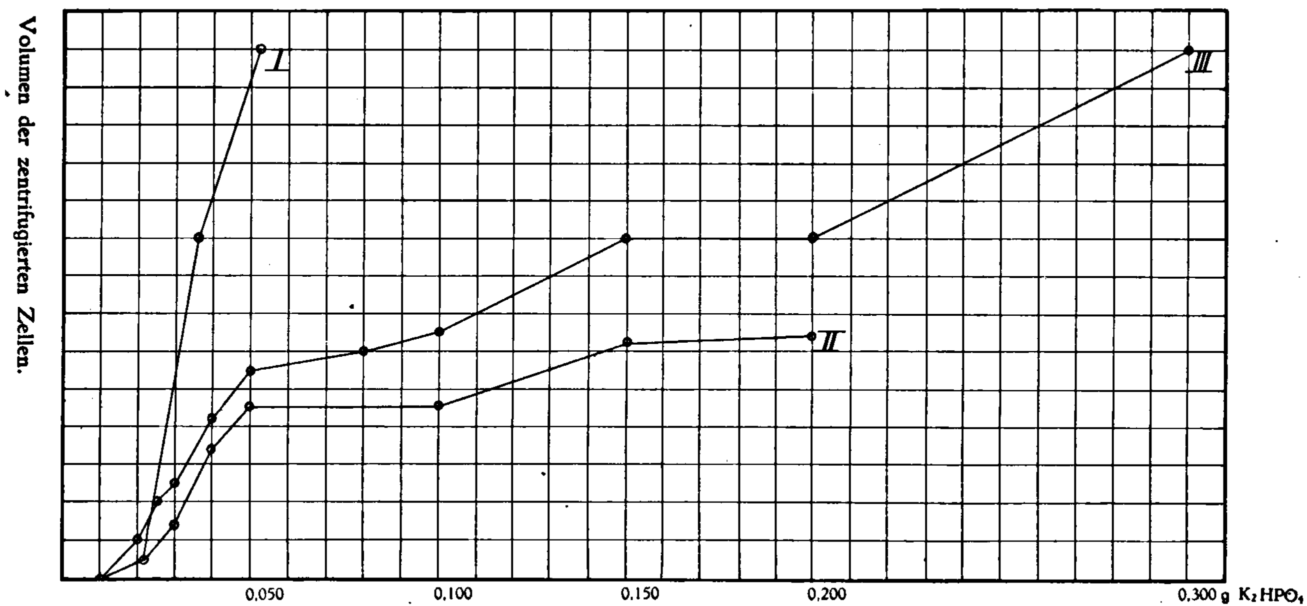
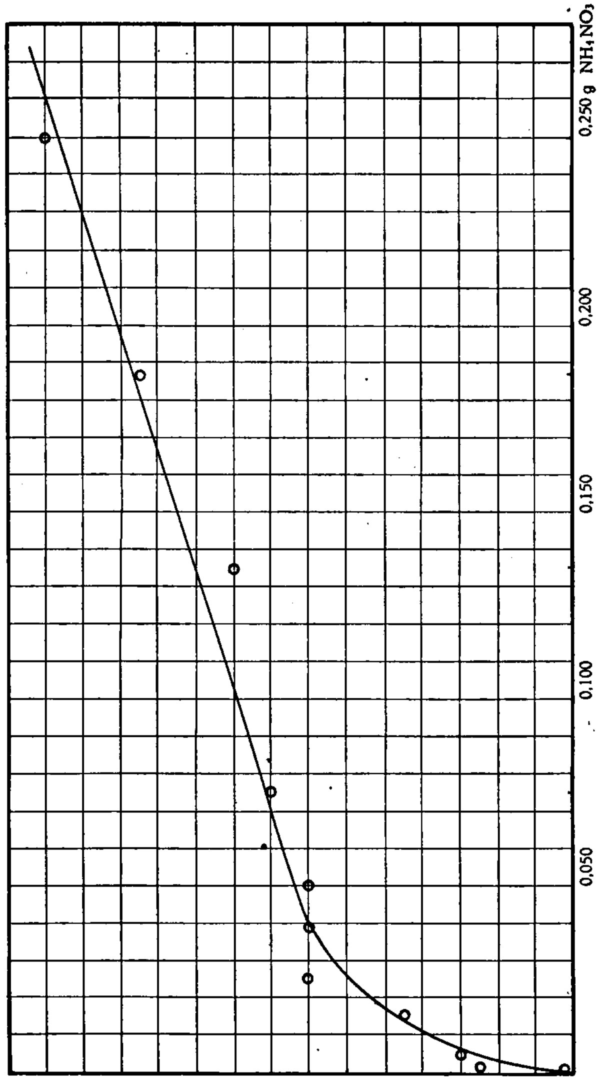


Fig. VI. Der Einflusz der NH_4NO_3 Menge auf das Wachstum von Stichococcus bacillaris.



Volumen der zentrifugierten Zellen.